



TITLE:

神経細胞移動における細胞核運動  
を駆動する分子機構の解析(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

呉, 攸

---

CITATION:

呉, 攸. 神経細胞移動における細胞核運動を駆動する分子機構の解析. 京都大学, 2018, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2018-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21283>

RIGHT:

許諾条件により本文は2019-03-11に公開

(続紙 1 )

京都大学	博士（生命科学）	氏名	呉 攸
論文題目	神経細胞移動における細胞核運動を駆動する分子機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>脳の発生過程において、新しく生み出された神経細胞はその目的地に向かって細胞移動を行うことで整然とした層構造を形成し、複雑な神経回路を構築する。移動に異常が生じると神経細胞は正しく配置されず、脳の形成不全や機能障害を引き起こす。このように神経細胞移動は脳の発生に極めて重要であるが、その制御機構は解明されていない点が多い。神経細胞の移動様式は大きく二段階に分けられ、まず進行方向に長い先端突起を伸ばし、その突起の中へ細胞核が運ばれることで移動を行う。二つの過程は独立に起こると考えられており、これらを繰り返すことで神経細胞は目的地に到達する。過去の研究から、核移動はアクチンや微小管、およびそれらに関連するモータータンパク質によって制御されることが示唆されている。しかし、実際にどのような力がこれら細胞骨格系の相互作用によって生成され、細胞核の運動を駆動しているのかは未だわかっていない。</p> <p>本研究では核にどのような力が働いているかを明らかにするべく、まず神経細胞移動時の核の動態そのものに着目した。小脳顆粒細胞を用いてスピニングディスク共焦点顕微鏡下で細胞および核の形態を経時観察したところ、細胞移動時の核は極めて動的であり、移動だけではなく回転や、先端が鋭く尖るような一時的な変形を頻繁に示すことが見出された。このような核の運動は、中心体やゴルジ体等の細胞小器官の運動とは独立であり、また移動を終えて分化へと進んだ神経細胞では起こらなかったため、核移動の制御機構に関連する現象であると推測された。核の回転運動に注目し、ヘテロクロマチンタンパク質の動態を三次元で追跡することで核の回転軸を解析した結果、核の移動方向と回転方向には相関があり、両者が同様の機構によって駆動されることが示唆された。その駆動力を担う分子を同定するため、細胞骨格系と核を繋ぐLINC複合体を阻害したところ、核の移動および回転は共に抑えられた。核の移動は微小管またはアクチンの阻害によって妨げられたが、核の回転は微小管阻害下においては抑制された一方で、アクチン阻害下で著しい影響はみられなかった。核周辺の微小管の配向は、進行方向側にマイナス端が大きく偏るものの混在しており、LINC複合体を介して微小管と核を繋ぎうるモータータンパク質であるダイニンとキネシン-1のいずれかを阻害した際にも核の移動と回転は抑えられた。また、ダイニンとキネシン-1は広く細胞質に分布するが、核膜にも局在することが観察された。さらに、キネシン-1のみと結合できるLINC複合体の変異体を発現させたところ、核の先端が尖るような変形が長時間に亘って持続することがしばしばみられ、キネシン-1が実際に核に対して局所的に力を働かせ得ることが示唆された。これらの結果から、核の移動は微小管系とアクチン系によって協調的に制御されているが、両者は互いに異なる性質の力を発生させ、それぞれ違った核の運動を駆動することが判明した。また微小管は、ダイニンおよびキネシン-1とLINC複合体との局所的な相互作用を介して核膜と動的に結合と解離を繰り返すことで、核移動に必要な指向的な力を働かせることが明らかとなった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

発生過程の哺乳類脳は、神経幹細胞から誕生したニューロンとグリアが組織内を大規模に遊走することにより、多数の細胞が秩序正しく重層した皮質構造を形成する。繊維芽細胞などの遊走では、アクトミオシン依存的に細胞全体が推進するのに対し、ニューロンは進行方向に数百ミクロンにおよぶ先導突起を伸ばし、その中を核が微小管モーター活性およびアクトミオシン収縮の両方に依存して運搬され则认为られている。しかし、これらのモーター分子が移動のどのタイミングと場所で力を発生し、核の運動を駆動するのかは明らかになっていない。

申請者は移動中のニューロン核の詳細な動態を明らかにするため、小脳顆粒細胞の遊走をガラス基板上で再構成した再凝集培養系を用い、核膜分子を分子標識してスピニングディスク共焦点顕微鏡で時空間分解を上げて長時間観察した。その結果、核は並進するのみならず、著しい変形や重心を軸とした回転を示すことを見出した。さらに核の回転はニューロン移動期に特異的な現象で、進行方向と相関すること、細胞質の流動ではなく核に直接働く力で駆動されることが明らかになった。申請者は核回転が移動期の核に作用する外力が変換された運動の一つであると考え、その分子制御機構を解析した。様々な変異分子発現実験と薬理実験を行い、核回転と移動は核膜と細胞骨格を結合するLINC複合体のネスプリン-1/2に依存していること、アクトミオシンは核回転には寄与せず、微小管モーターの細胞質ダイニンとキネシン-1両方に依存していることを示した。これまで移動期のニューロンにおいて微小管は先導突起から核に向けプラス端を極性配向しており、核膜とダイニン複合体が結合してマイナス端のある先導突起へ運搬する则认为られており、キネシンの寄与は殆どないとされてきた。そこで移動期の顆粒細胞で微小管の重合過程を観察すると、2割程度の微小管が逆向きに配向していることが新たに分かり、キネシンも核の前進に寄与し得ることが示された。さらに生体でキネシン-1の発現阻害を行い、顆粒細胞の移動にキネシン-1が必要であることを証明した。以上の結果から、核移動は両方向性に配向する微小管上のモーター分子とネスプリン-1/2の動的な結合を介した局所的な力で駆動されており、合力の作用する部位により並進や回転などの運動が決定されるという新しい核移動モデルを提唱した。

本論文の全編を通して、生命科学に関する優れた研究能力と高度で幅広い学識が示されている。また、生命科学の理解・発展に寄与する新規発見と概念が含まれており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成30年4月12日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日